

機関番号：10101
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20580019
 研究課題名(和文) 種子散布から子葉の出現までに21か月を要するオオバナノエンレイソウの種子休眠
 研究課題名(英文) Seed dormancy of *Trillium camschatcense* requiring 21 months from seed dispersal to cotyledon emergence
 研究代表者
 近藤 哲也 (KONDO TETSUYA)
 北海道大学・農学研究院大学院・教授
 研究者番号：10153727

研究成果の概要(和文)：オオバナノエンレイソウの種子が散布から出芽までに21ヶ月もの長期を要する理由を、胚成長、発根および出芽に必要な温度と光要求の側面から明らかにした。オオバナノエンレイソウの胚は、種子の散布時には小さく未発達であり、胚成長と発根のためには第1回目の低温を必要とし、発根した種子が出芽するためには、第2回目の低温が必要であった。種子の発根率は、変温条件よりも恒温条件で、また明条件よりも暗条件で高かった。

研究成果の概要(英文)：To know the reason why seeds of *Trillium camschatcense* need long periods for 21 months from seed dispersal to cotyledon emergence, temperature and light requirement for embryo growth, radicle emergence, and cotyledon emergence of seeds were revealed. Embryos in seeds were undeveloped at seed dispersal. The first low temperature was required for embryo growth and radicle emergence, and the second low temperature was required for cotyledon emergence from seeds producing roots. Percentages of radicle emergence at constant temperature or in dark were higher than at alternating temperature or in light.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究代表者の専門分野：園芸学・造園学

科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学

キーワード：種子発芽, オオバナノエンレイソウ, 温度, 光

1. 研究開始当初の背景

日本の北方地域、とくに北海道の植生は本州のそれとは大きく異なっており、都市周辺部においても北方地域特有の美しい野生草花の大群落を目にすることができる。一方、

生物多様性条約の締結から外来生物法の施行によって、地域特有の自生植物を保全するとともに、それらを景観資源、自然再生や緑化の材料として利用しようという動きはますます活発になってきている。この目的を達

成するためには、園芸学、造園学、生態学の研究手法と知識を統合し有効に活用する必要がある。

本申請では、北方地域に自生する大きな白い花卉を有するユリ科多年草のオオバナノエンレイソウ（図-1）を取り上げ、それらの保全、個体群の再生とともに、観賞植物として、また地域の景観形成や観光資源に利用することを最終の目的としている。そのためには、野外での生活史、生育環境、繁殖様式、増殖方法、野外での個体群の管理方法などを解明し情報を蓄積する必要がある。本申請では、それら解明すべき事柄のうち、生活史の最初の段階である、種子発芽について明らかにする。



図-1 オオバナノエンレイソウの花

2. 研究の目的

自生植物をその生育環境とともに保全する、あるいは、景観形成や自然再生のための植物資源として利用することは、現在の社会情勢の中で多くの人々に受け入れられることとなった。しかし、対象となる自生種の種類が多いにもかかわらず、基本的な生活史や繁殖様式そして実用的な増殖方法に関する情報は依然として不足している。研究代表者は、そのような現状に対応すべく自生植物について野外での発芽生態と種子休眠、個体群の導入・管理等について知見を蓄積し、数多くの論文として公表してきた。

なかでも、春に開花・結実が終了し、初夏には地上部が枯死してしまう、いわゆる春植物については、これまでも科学研究費補助金の支援によって、カタクリ、キバナノアマナ、エゾエンゴサク、オオウバユリなどに関して種子休眠に関する基礎的な知見とともに応用的な情報を *American journal of botany*、*Canadian journal of botany*、*Seed science research*、*Landscape and ecological engineering*、日本緑化工学会誌、ランドスケープ研究、園芸学研究など国内外の学会誌に報告してきた。これらの植物は、いずれも初夏から秋にかけて種子が散布されるが、その時点では胚が未発達であり、例えば、高温→中温→低温→中温のようないくつかの温度段階の期間中に、胚が成長し、引き続いて発芽に至る。この様な種子は形態・生理的

休眠（Morphophysiological dormancy:MPD）という休眠に分類され、さらにその中でより下位の8つのタイプに分けられている。興味深いことに、カタクリ、キバナノアマナ、エゾエンゴサクは、春に種子が散布され、翌春に子葉が出現する点では一致しているが、胚の発達、発根、出芽に必要なとされる温度条件はそれぞれの種で異なっているため、MPDのなかでもそれぞれ違う休眠タイプに分類される。また、オオウバユリの種子は、散布から子葉の出現までに2回の冬を経た19ヶ月という長期間を要し、これも上記の植物の種子とは異なる休眠タイプに分類されている。

本申請で対象とするオオバナノエンレイソウについては、すでに予備実験において種子の散布・播種から子葉の出芽までに21ヶ月もの長期間を要することを確認している。本申請では、オオバナノエンレイソウの種子が、なぜ発芽までにそのような長期間を必要とするのかを明らかにして種子の休眠タイプを決定し、さらに種子から播種や苗の移植によって個体群を再生するために必要な情報を蓄積することを目的として、種子の胚成長、発根、そして出芽に必要な温度、光条件と種子の貯蔵方法について明らかにした。

3. 研究の方法

(1) 自生地からの種子採取

胚成長、発根および出芽のための詳細な温度・光要求を明らかにするためには、まず第一に大量の種子を確保しなければならない。そのため、生育場所を確認し、種子採取のための適切な時期の決定するために頻繁に現地調査を実施した。オオバナノエンレイソウは、糖や脂質を含む大きなエライオソームを持つ（図-2）。このエライオソームを餌としてアリが運ぶため、オオバナノエンレイソウの種子はアリ散布型の種子として有名である。しかしエライオソームは、シャーレを用いた発芽実験ではカビの発生を誘発しやすいため、採種後は手作業によりこのエライオソームを可能な限り除去した。

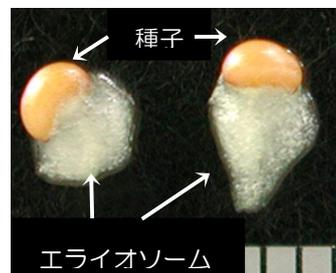


図-2 オオバナノエンレイソウの種子とエライオソーム

(2) 恒温器を用いた胚成長および発根のための実験

温度勾配恒温器や低温恒温器を用いて、野外の春→夏→秋→冬を再現した温度区、あるいは春・夏・秋・冬のいずれかの温度条件を与えない区、恒温条件、変温条件を与える区などの処理区を設定した。それらの処理区毎に明、暗の光条件組み合わせた多数の温度処理区を設定した。

供試種子は40粒4反復とし、プラスチックシャーレにロ紙を敷いたものを播種床にして播種した。シャーレには適量の蒸留滅菌水を入れ、パラフィルムで密封した。

胚成長の観察では、毎月10粒の種子についてミクロトームを用いて種子の切片を作成し、マイクロメータを装着した光学顕微鏡で胚の長さを測定した。

明条件では1日12時間日長とし、ほぼ1週間毎に観察と水の補給を行った。暗条件ではシャーレを2重のアルミ箔に包み、ほぼ1ヶ月毎に観察と水の補給を行った。カビが発生した場合には、種子を水洗し新しい播種床に移し替えた。

(3) 恒温器を用いた子葉の出現のための実験

種子を不織布に包んで野外に埋土しておき、翌年の8月下旬から9月上旬にかけて発根した直後の種子をフルーツケースに深さ1cmで埋土し、恒温器を用いて様々な温度条件を与え、子葉の出芽のための温度条件を決定した。

(4) 種子の貯蔵の可能性

人為的に増殖する際には、「種子の貯蔵可能性」を明らかにしておくことが重要となる。ここでは、採種直後の種子を、乾燥5℃、乾燥室温、湿潤5℃および乾燥-20℃で貯蔵した後、シャーレに播種して、発根能力を確かめた。

4. 研究成果

(1) 恒温器を用いた胚成長および発根のための実験

① 胚成長のための温度

0℃120日→10℃60日→25℃で培養した種子の胚は、0℃および10℃ではほとんど成長しなかったが、25℃に移動してから成長を始め、25℃に移動後120日目には、発根直後の種子の胚長に対する測定した胚長の割合が98%に達し、ほとんどの種子が発根していた。

② 明条件での連続した変温が発根に及ぼす影響

明条件で様々な変温条件を与えた場合、全ての処理区において最大でもわずか2%の種子しか発根しなかった。残った種子は、ほとんど健全な種子であり、腐敗した種子は最大で9%であった。

③ 光と温度が発根に及ぼす影響

最終発根率に対する3元配置の分散分析の結果、光、夏期に相当する温度、様々な温度推移の各要因は、それぞれ単独で発根率に有意な影響を与え、光と温度推移、および、夏期の温度と温度推移のそれぞれ2要因の相互作用は有意であった。すなわち、オオバナノエンレイソウの種子は、明区よりも暗区で高い発根率を示し、さらに80%以上の高い発根率を得るためには、低温(0℃120日+10℃60日)を含む温度推移の処理が必要であることが示された。

④ 光と最終段階での温度が発根に及ぼす影響

二元配置の分散分析の結果、光と最終段階での温度、そしてそれらの2要因の相互作用は、ともに有意な影響を与えた。暗区の方が明区よりも、また、最終段階での温度が恒温の方が変温よりも高い発芽率を示した。最終温度が20℃と25℃では、92%以上発根した。

⑤ 最終段階での日較差の程度が発根に及ぼす影響

最終段階の温度が25/15℃(変温の幅が10℃)での発芽率は11%であったが、変温の幅が0℃または5℃の場合は、それぞれ82%、89%となり、両者間で有意な差は認められなかった。つまり、オオバナノエンレイソウの種子は、5℃以内の日較差であれば、高い発根率を示すが、日較差が10℃にもなると大きく発根率が低下した。

(2) 恒温器を用いた子葉の出現のための実験

発根した種子を15/5℃に置き続けた場合、60日目まで幼根が伸長したが、それ以降は幼根の伸長が停止し、子葉も伸長しなかった(図-3、4)。しかし、15/5℃に90日間置いた後、120日間0℃に移動し、再び15/5℃に移動した種子は急速に子葉が伸長した。

また、発根種子が低温に反応して、胚軸を伸長し、高い子葉の出現率を得るためには、発根した種子が15/5℃に90日間置かれて、根系を十分に発達させた後で、60日以上低温を与える必要があった。発根種子が適切な温度を与えられた場合、15/5℃、20/10℃、25/15℃の幅広い温度で高い出芽率を示した。

以上のことから、発根した種子が胚軸を伸長させて、子葉を地上部へ出現させるためには、種子が発根した後、高温条件下で十分に根系を発達させた後に2回目の低温に曝されることが必要であることが示された。

(3) 種子の貯蔵の可能性

採取直後の種子の発根率は96%であり、そ

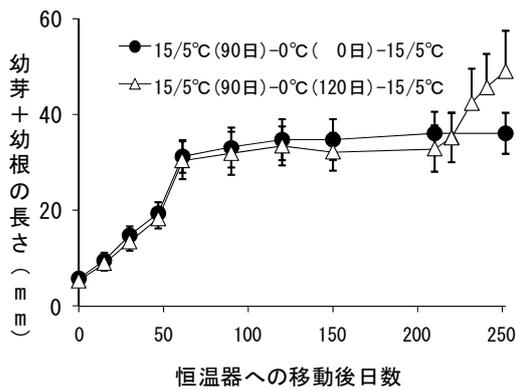


図-3 発根種子が胚軸を伸長させるために必要な温度条件

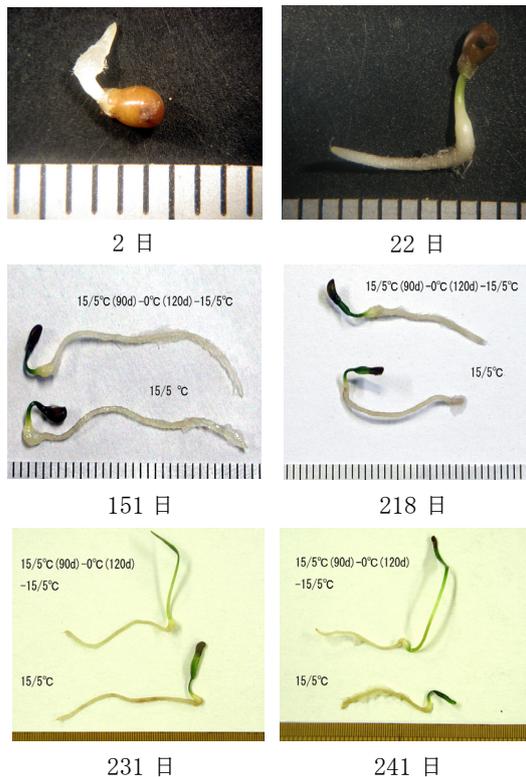


図-4 発根種子の胚軸の伸長過程
図中の日数は、15/5°Cの恒温器に移動後の日数を示す。

のときの種子の含水率は 94%であった。乾燥 5°Cで 8 週間貯蔵した種子の発根率は 90%であり、種子の含水率は 20%であった。湿潤 5°Cで 8 ヶ月貯蔵した種子の発根率は 96%で、含水率は 94%となった。このことから、オオバナノエンレイソウの種子は、含水率が 20%に低下しても 90%の発根率を維持すること、また湿潤 5°Cで貯蔵すると、少なくとも 8 ヶ月は初期の発根率を維持できることが明らかとなった。しかし、乾燥-20°Cで貯蔵した種子は、90%以上の種子が腐敗した。

(4) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

国際的レベルで見た場合、MPD 型の休眠に関する研究は、ケンタッキー大学の Baskin 等によって北米やヨーロッパを中心とした植物について数多く報告されてきた。しかし、日本の植物の MPD 型の休眠に関する報告は、申請者のこれまでの一連の論文以外にはない。本研究によって、オオバナノエンレイソウは、MPD 型のなかでも、Deep simple double dormancy という休眠タイプに属することが、明確に示された。この休眠タイプに関する論文は世界で 2、3 の報告がある。しかし Deep simple double dormancy を持つ種子の胚成長の過程、発根・出芽に及ぼす温度、光の影響を詳細に明らかにしたのは、本研究が世界で初めてのものである。この成果は、世界の種子生理生態学の分野に大きく貢献できるものと信じている。

さらに、これらの研究成果は、日本の北方地域の失われつつある観賞価値の高い植物の保全と再生のための重要な情報も数多く含んでおり、この方面でも高い有用性を持っている。

本研究の成果は、原著論文として過去 5 年間の平均 IF=3.61 の American Journal of Botany に掲載された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

T. Kondo, M. Mikubo, K. Yamada, J. L. Walck, and S. N. Hidayati, Seed dormancy in *Trillium camschatcense* (Melanthiaceae) and the possible roles of light and temperature requirements for seed germination in forests, *American Journal of Botany*, 査読有, 98(2), 2011, 215-226.

[学会発表] (計 1 件)

近藤哲也、オオバナノエンレイソウ (*Trillium camschatcense*) の種子発芽, 日本造園学会北海道支部大会、2010年9月4日、札幌市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 哲也 (TETSUYA KONDO)

北海道大学大学院・農学研究院・教授

研究者番号：10153727

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし